Quaderno di Studi e Notizie di Storia Naturale della Romagna
Quad. Studi Nat. Romagna, 9: 1-12, maggio 1998 ISSN 1123-6787

Otello Cattani, Loris Dirani & Emidio Rinaldi

ASPETTI DELLA FISIOLOGIA DI *SCAPHARCA INAEQUIVALVIS* (BRUGUIÈRE, 1789) E MECCANISMI BIOCHIMICI DEL SUO ADATTAMENTO ALLE CONDIZIONI AMBIENTALI

(Bivalvia Arcoida Arcidae)

Riassunto

In questo lavoro vengono brevemente descritte alcune caratteristiche fisiologiche e biochimiche del Mollusco Bivalve *Scapharca inaequivalvis.* L'alto grado di adattamento metabolico alla carenza di ossigeno probabilmente rappresenta la ragione principale del successo di questo bivalve, introdotto accidentalmente nelle nostre acque, nella colonizzazione delle coste adriatiche. Per altri aspetti della sua biologia *Scapharca* è un soggetto adatto per diversi tipi di studio.

Abstract

[*Aspects of the physiology of* Scapharca inaequivalvis *(Bruguière, 1789) and biochemical mechanisms of its adaptation to the environmental conditions]*

In this paper some physiological and biochemical characteristics of *Scapharca inaequivalvis* are briefly reviewed. The high metabolic adaptation to the oxygen lack probably represents the main reason of the successs of this accidentally-imported bivalve in its colonization of the Northern Adriatic coast. For other aspects of its biology, *Scapharca* is a suitable subject for a wide series of studies.

Key words: Bivalvia, *Scapharca inaequivalvis*, physiology, biochemistry, Romagna, Italy.

Introduzione

Scapharca inaequivalvis (Figg. 1 e 2) è un Mollusco Bivalve, di origine indopacifica, della famiglia degli Arcidi. Per la validità del genere *Scapharca* si veda RINALDI (1993). La prima segnalazione della sua presenza sul nostro litorale è di RINALDI (1972) relativa ad esemplari reperiti sul litorale ravennate nel 1969-1971. Non si sa come sia arrivata sui nostri litorali, ma RINALDI & GHISOTTI (1976) escludendo una diffusione naturale, ritengono si tratti di un apporto antropico.

Dalle prime segnalazioni ad oggi la specie si è diffusa rapidamente ed ampiamente. Il massimo dell'espansione si è avuto nella seconda metà degli anni '70 in concomitanza con le più intense manifestazioni dei fenomeni eutrofici. È interessante notare che *Scapharca* ha occupato parzialmente delle nicchie condivise da altri molluschi, questi ultimi più sensibili alla carenza di ossigeno (*Venus gallina, Venerupis aurea*).
Il tentativo di spiegare le ragioni del successo della colonizzazione del nostro litorale da parte di questa specie non può prescindere da due considerazioni. La prima è che la massima densità di *Scapharca* è stata raggiunta quando i fenomeni di eutrofizzazione erano alla loro maggiore intensità e il successo del suo insediamento è coinciso con un relativo declino delle popolazioni native. La seconda è che questa specie presenta delle caratteristiche biochimiche e fisiologiche, nonché gli adattamenti tipici dei buoni anaerobi facoltativi, che consentono un'elevata sopravvivenza in carenza di ossigeno. È pertanto verosimile che la capacità di resistenza all'ipossia/anossia, indotte dai fenomeni eutrofici, sia uno dei fattori che hanno favorito la colonizzazione del nostro mare.
Le osservazioni sugli effetti dell'eutrofizzazione sulla fauna bentonica e sul successo di *S. inaequivalvis* nella competizione per l'ossigeno rispetto a molte specie native, hanno stimolato ricerche intensive sugli adattamenti fisiologici e biochimici di diverse specie di animali marini (Molluschi, Crostacei e Pesci) all'anaerobiosi. Da oltre quindici anni presso i Laboratori del Centro di Ricerche Marine di Cesenatico e del Dipartimento di Biochimica (Sezione di Biochimica Veterinaria) dell'Università di Bologna sono in corso studi comparati sul metabolismo anaerobico ai quali hanno preso parte anche numerosi ricercatori ed esperti stranieri (A. de Zwaan, V. Von Putzer, G. Van den Thillart: Olanda; R.E. Weber, B. Vismann: Danimarca; J. Dalla Via: Austria; K.B Storey, S. Brooks: Canada).
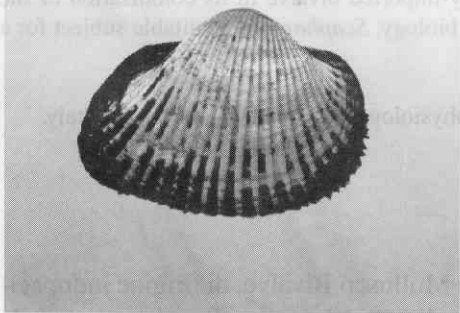
Fig. 1 - Esemplare di *Scapharca inaequivalvis* raccolto a Porto Corsini (Ravenna). Le dimensioni (81,2 mm) sono le maggiori raggiunte da questo mollusco in Adriatico.
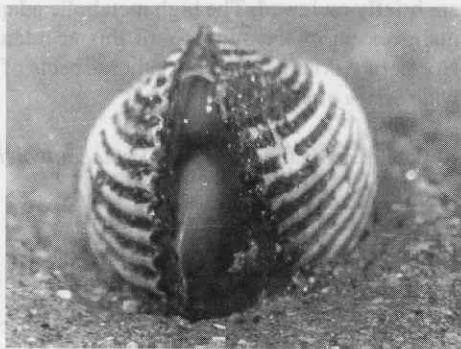
Fig. 2 - Esemplare di *Scapharca inaequivalvis* parzialmente infossato nella sabbia della spiaggia di Cesenatico (FO).

Ipossie/anossie dell'Adriatico settentrionale

L'ossigeno disciolto derivato dall'interscambio con l'atmosfera o di origine fotosintetica arricchisce soprattutto gli strati superficiali. Dal momento che la velocità di diffusione dell'ossigeno in acqua è molto lenta, la presenza di questo gas a tutte le profondità è legata alla circolazione delle masse d'acqua. Pertanto molto comuni sono condizioni di anossia in bacini chiusi o con limitate comunicazioni con il mare aperto, dove la circolazione è limitata, o quando il formarsi di stratificazioni impedisce il miscelamento degli strati profondi con quelli superficiali. Nondimeno sono frequenti ipossie e anossie in aree di mare aperto, la cui origine è legata alla presenza di grandi quantità di sostanza organica che consumano ossigeno nei processi ossidativi durante la degradazione batterica. Questo fenomeno è particolarmente diffuso nelle acque costiere dove abbondanti sono gli apporti di nutrienti di origine antropica che sommandosi a quelli prodotti da processi rigenerativi, aumentano la trofia delle acque e causano fioriture massive di fitoplancton. Le microalghe possono raggiungere, in certi casi, una densità dell'ordine di decine di milioni di cellule/litro. La maggior parte della sostanza organica (principalmente cellule fitoplanctoniche morte), a causa della relativamente bassa profondità del nostro mare, sedimenta prima di essere completamente decomposta. Il proseguimento dell'ossidazione consuma l'ossigeno del fondale, creando così condizioni di ipossia via via più spinte fino a giungere all'anossia. La stratificazione estiva, dovuta all'alta temperatura ed alle condizioni di mare calmo, aggrava il fenomeno, impedendo il rimescolamento delle acque ed il trasferimento di ossigeno tra gli strati superficiali e quelli profondi, dove avvengono principalmente i processi di decomposizione.
Negli ultimi 20 anni l'Adriatico settentrionale è stato interessato da intensi fenomeni di eutrofizzazione e con pesanti effetti negativi sull'ecosistema (ipossie e anossie) e sull'economia dell'area. Sebbene in questo periodo numerose segnalazioni e studi siano disponibili per l'intero alto Adriatico (MANCINI et al., 1978; DEGOBBIS et al., 1979; STACHOWITSCH, 1984, 1986, 1992; OREL et al., 1986), il caso delle coste emiliano-romagnole risulta unico per l'intensità dei fenomeni che si sono protratti dalle prime segnalazioni fino alla fine degli anni ottanta, assumendo un carattere di cronicità. Relativamente a quest'ultima area (da Goro a Cattolica) è disponibile un'ampia documentazione dovuta ad una costante attività di monitoraggio e di studio da parte della M/N Daphne Regione Emilia-Romagna, del Centro di Ricerche Marine di Cesenatico e dell'Università di Bologna (BONI, 1983; VIVIANI et al., 1985; BONI et al., 1986; VOLLENWEIDER et al., 1992; RINALDI et al., 1992).

Risposte degli animali bentonici alla carenza di ossigeno

Quando si determinano condizioni di anossia, le prime risposte alla diminuzione dell'ossigeno sono di tipo fisiologico: aumento della ventilazione, aumento dell'irrigazione dei tubi, chiusura di valve e opercoli. Mentre gli organismi mobili

lasciano le aree anossiche, le condizioni di anossia inducono dei cambiamenti nel comportamento (indicatori di uno stato di stress) degli animali legati al substrato. Le specie epibentiche tendono a disporsi in posizioni sopraelevate del sedimento, in dense aggregazioni, come per avvicinarsi agli strati d'acqua superiori più ossigenati. Le specie dell'infauna abbandonano le tane e si portano alla superficie in tempi diversi a seconda della loro tolleranza alla mancanza di ossigeno. Dapprima emergono Crostacei ed Echinodermi, in seguito Anellidi ed infine Sipunculidi e Molluschi Bivalvi. Questi ultimi tipicamente appaiono con le valve aperte ed i sifoni estesi (STACHOWITSCH, 1992). Tuttavia a seconda dell'intensità e durata dei fenomeni, queste risposte risultano insufficienti ad assicurare la sopravvivenza. Infatti, se i fenomeni persistono, i tempi di morte degli animali bentonici sono abbastanza rapidi e solo adattamenti a livello biochimico possono assicurare una sopravvivenza più lunga. STACHOWITSCH (1992), relativamente alla moria del 1983 nel Golfo di Trieste, riporta che dopo 4 giorni solo il 10% della biomassa era ancora vivente. I primi a morire furono piccoli pesci (Gobiidi e Pesci piatti), poi le spugne e al terzo giorno gli Echinodermi. Anellidi e Bivalvi (specie resistenti) sopravvissero fino a 4 o 5 giorni. Celenterati, Gasteropodi e Sipunculidi perirono dopo oltre una settimana.
La carenza di ossigeno causa profonde modificazioni della bionomia bentonica, favorendo la diffusione delle specie tolleranti. Se i fenomeni anossici si interrompono, ci può essere un recupero dei popolamenti bentonici, che si attua in tempi relativamente lunghi. DEGOBBIS (1993) seguì il recupero successivo ad una imponente moria di quasi tutte le specie della macrofauna avvenuta nel 1989 in in un'area dell'Adriatico centro-orientale. La ripresa parziale si ebbe dopo un anno sia in termini di biomassa che di numero di specie. L'abbondante presenza di *Corbula gibba*, specie indicatrice di instabilità, suggeriva che la stabilizzazione non era ancora stata raggiunta. Il ripetersi di ipossie spinte nel 1990 e 1991 non permise il raggiungimento delle condizioni preesistenti. In conclusione, il recupero può essere ostacolato dalla ricorrenza dei fenomeni con l'interruzione dell'attività di ricolonizzazione o nei casi meno gravi con il disturbo di tale processo, dovuto alla morte delle forme giovanili o delle specie meno resistenti.

Adattamenti biochimici

Gli animali che sono in grado di vivere in un ampio intervallo di concentrazioni di ossigeno (compresa l'assenza) vengono indicati con il termine di organismi euriossici o anaerobi facoltativi, mentre sono detti stenossici quelli che possono tollerare limiti ristretti di concentrazioni di O_2. La resistenza all'anossia/ipossia è normalmente correlata all'ambiente di vita. I migliori adattamenti si rilevano nelle specie di ambienti caratterizzati da ampie fluttuazioni dell'ossigeno disciolto e cioè negli organismi che vivono nei sedimenti o nella zona intertidale che resta emersa a bassa marea. Anche fra gli animali euriossici esiste un'ampia variabilità della sopravvivenza in anossia che va da poche ore a giorni o settimane (Tab. 1).

Tab. 1 - Tempi di sopravvivenza di alcune specie di invertebrati marini in anossia a 10°C. LT_{50} rappresenta il tempo di morte del 50% degli individui (HAMMEN, 1976).

Specie	LT_{50} (giorni)	Specie	LT_{50} (giorni)
Cyprina islandica	51	*Cardium edule*	100
Mytilus edulis	35	*Asteria rubens*	85
Scrobicularia plana	25	*Carcinus maenas*	48
Mya arenaria	21	*Limulus poliphemus*	48
Littorina saxatilis	6	*Gammarus oceanicus*	13
Modiulus demissus	5	*Hyale prevosti*	1

In genere gli invertebrati marini (fra questi particolarmente Molluschi, Anellidi, Celenterati, Sipunculidi) sono dei buoni anaerobi facoltativi. I Crostacei fra gli invertebrati ed i vertebrati sono invece stenossici.
Mentre in condizioni aerobiche gli organismi marini sono in grado di utilizzare come substrati energetici carboidrati, lipidi e aminoacidi, in condizioni anaerobiche essi devono contare soprattutto sulle riserve di carboidrati. Per questa ragione gli animali euriossici contengono grandi quantità di glicogeno che viene accumulato in tutti i tessuti. Inoltre nei Molluschi marini è stato messo in evidenza un ampio pool di aminoacidi liberi, che giocano un ruolo importante nella regolazione osmotica cellulare, ma che possono essere utilizzati come substrato energetico nel metabolismo anaerobico.
La glicolisi è la via metabolica universale per ottenere energia in assenza di ossigeno: in questa sequenza lineare di reazioni la fermentazione del glicogeno termina con la formazione di acido lattico e la produzione di 2 o 3 molecole di ATP (questo nucleotide è il trasportatore di energia nei processi biochimici). Nei Molluschi Bivalvi buoni anaerobi facoltativi la glicolisi presenta invece importanti modificazioni e porta alla formazione di una molteplicità di prodotti finali (alanina, succinato, propionato e opine) ed una maggiore resa energetica (circa 7 moli di ATP per mole di glucosio). La resa energetica anaerobica potrebbe essere considerata ancora molto bassa rispetto alla produzione aerobica (38 ATP), ma bisogna ricordare un'altro adattamento, forse il più importante, per prolungare la sopravvivenza in anossia: il rallentamento metabolico. Gli animali buoni anaerobi facoltativi sono in grado di deprimere l'intensità del metabolismo per risparmiare riserve energetiche ed evitare l'accumulo di prodotti finali anaerobici tossici per la cellula. Infatti la maggior parte dei prodotti finali è data da acidi organici che determinano un abbassamento del pH cellulare. Pertanto la cellula (altro adattamento) possiede dei sistemi tampone per il mantenimento del pH entro limiti tollerabili. Per un approfondimento di questi argomenti rimandiamo alle rassegne di DE ZWAAN & PUTZER (1985), DE ZWAAN & VAN DEN THILLART (1985) e DE ZWAAN & MATHIEU (1992).
Dopo avere brevemente illustrato i meccanismi biochimici che consentono agli organismi marini di aumentare la sopravvivenza in anossia, vediamo ora come questi si realizzano in alcune specie tipiche dell'Adriatico del nord.

Sono state effettuate prove di laboratorio per saggiare i tempi di sopravvivenza di specie adriatiche (Molluschi, Crostacei e Pesci), per mezzo di incubazioni in acqua deossigenata (DE ZWAAN et al., 1991; DE ZWAAN et al., 1992, CATTANI et al., 1993). Per alcune specie di Molluschi Bivalvi (Fig. 3) i valori di LT_{50} (il tempo di morte del 50% degli individui) in anossia si dispongono nella seguente serie discendente:
Scapharca (19 gg) > *Mytilus* (16 gg) > *Tapes* (8 gg) > *Venus* (5 gg).
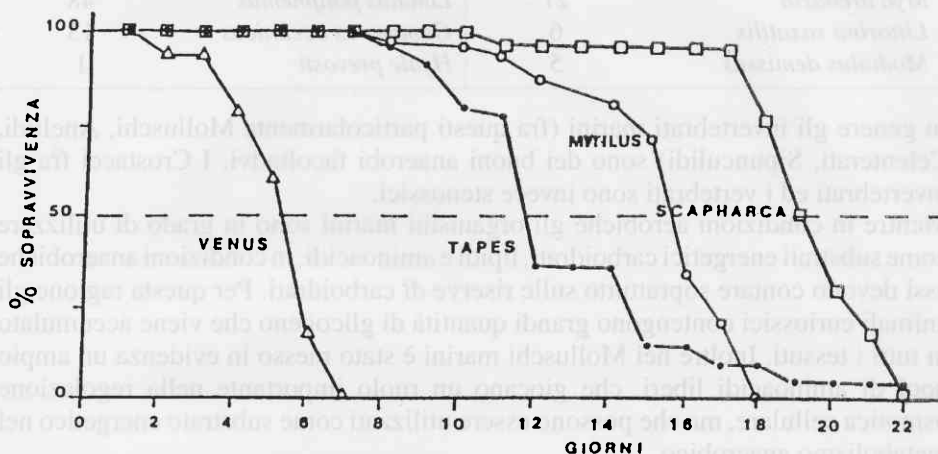
Fig. 3 - Tempi di sopravvivenza di Molluschi Bivalvi adriatici in anossia.

La capacità di sopravvivenza di *S. inaequivalvis*, rilevata sperimentalmente, concorda con le osservazioni in campo ed è ulteriormente giustificata, come vedremo di seguito, dall'efficienza dei meccanismi adattativi all'anossia.
L'adattamento più importante ai fini della resistenza alla carenza di ossigeno è sicuramente la capacità di rallentare il metabolismo. Le ricerche sui Molluschi adriatici hanno evidenziato che la notevole differenza di sopravvivenza di *S. inaequivalvis* e *M. galloprovincialis* rispetto a *V. gallina* e *T. philippinarum*, è proprio dovuta alla loro maggiore capacità di rallentare l'intensità del metabolismo. La misura del turnover di ATP (capacità di rigenerazione dell'ATP nell'unità di tempo) in anaerobiosi è un importante indice per determinare la capacità di arresto metabolico. È stato calcolato che il turnover di ATP in *S. inaequivalvis* dopo 24 ore di anossia è il 4,5% di quello anaerobico (BROOKS et al.,1991). Quindi *Scapharca* in anossia riduce il suo metabolismo di oltre 20 volte rispetto a quello aerobico. Ricerche comparate hanno dimostrato che un simile rallentamento è presente solo in *M. galloprovincialis* (DE ZWAAN et al., 1991), mentre è minore in *V. gallina* ed in *T. philippinarum* (BROOKS et al.,1991; Cattani, dati inediti). Pertanto mentre *Scapharca* e *Mytilus* sono ugualmente adattati a sostenere lunghi periodi di anossia, *Venus* e *Tapes* si trovano in una posizione di svantaggio. Infatti un minore rallentamento metabolico significa un più rapido consumo delle riserve ed un maggiore accumulo di prodotti finali tossici.

Parallelamente sono stati studiati i meccanismi molecolari che consentono il rallentamento metabolico. Nel passaggio dalla normossia alla anaerobiosi si rilevano modificazioni a carico dei parametri cinetici degli enzimi regolatori della glicolisi (glicogeno fosforilasi, fosfofrutto cinasi e piruvato cinasi) in S. inaequivalvis ed in una certa misura in M. *galloprovincialis*. Tali modificazioni portano a enzimi meno attivi ed in definitiva si risolvono in un abbassamento della velocità del flusso glicolitico. I meccanismi di controllo, attraverso modulazione allosterica o per mezzo di modificazioni covalenti, non sono attivi al contrario in *V. gallina* almeno nelle prime 24 ore di anossia (BROOKS et al., 1991; DE ZWAAN et al., 1991).

Adattamenti all'ipossia

Se i fenomeni eutrofici possono portare ad anossia ambientale, molto più spesso determinano condizioni di ipossia più o meno severa. Gli effetti dell'ipossia sono stati valutati su diverse specie di Molluschi Bivalvi per mezzo di tecniche respirometriche. È stato osservato che *M. galloprovincialis*, *V. gallina* e *T. philippinarum* non riescono a regolare il consumo di ossigeno al di sotto di una soglia piuttosto alta. *M. galloprovincialis* comincia a diminuire il consumo di ossigeno quando la tensione di questo gas nell'ambiente scende al di sotto di 3,4 mg/l e a 0,6 mg/l il valore è 9 volte più basso che in normossia (animale ossiconforme). Il comportamento di *V. gallina* e *T. philippinarum* è analogo.
Al contrario *S. inaequivalvis* si comporta come un animale ossiregolatore. Se osserviamo la curva del consumo di ossigeno di questo bivalve (Fig. 4), possiamo vedere che ci sone due zone di regolazione: al di sopra di 2,5 mg/l ed al di sotto di 1,5 mg/l. La regolazione alle concentrazioni più basse di ossigeno è sicuramente dovuta alla presenza di emoglobina (impaccata in eritrociti nucleati) nel sangue di questo bivalve che permette una più efficiente utilizzazione dell'O_2. Sembra inoltre che l'emoglobina di *Scapharca* sia sensibile alle variazioni di ATP nel senso che i ridotti livelli di ATP che si registrano nell'ipossia severa, aumentano la sua affinità per l'ossigeno.
La presenza dell'emoglobina nell'arcide costituisce un grosso vantaggio rispetto agli altri Molluschi Bivalvi. Questi ultimi non possiedono alcun pigmento respiratorio ed estraggono l'ossigeno per la respirazione direttamente dall'acqua (attraverso le branchie). Semplici considerazioni possono mostrarci la differenza di efficienza nell'utilizzazione dell'ossigeno disciolto fra *Scapharca* e gli altri Bivalvi. Essendo la solubilità dell'O_2 in acqua piuttosto bassa, la sua concentrazione nell'ambiente acquatico sarà molto inferiore a quella dell'atmosfera. Infatti mentre nell'aria i livelli di ossigeno raggiungono 210 ml/l, nell'acqua di mare generalmente non supera i 5,5 ml/l. In acqua di mare alla salinità del 20 ‰ avremo quindi solo 7,6 mg O_2/l che corrisponde ad una concentrazione 0,2 mM. Pertanto in assenza di pigmenti respiratori questa è la quantità di ossigeno disponibile. Invece è stato calcolato che in *S. inaequivalvis*, sulla base del valore dell'ematocrito (6,0 ± 1,7 ml di globuli rossi/100 ml di sangue) e della concentrazione di emoglobina (1,5 ± 0,15 g/100 ml di sangue), il sangue può presentare livelli di ossigeno fino a 1 mM.

Secondo questi dati *S. inaequivalvis* aumenta la sua disponibilità di ossigeno di un fattore 5 rispetto ai Molluschi privi di pigmenti respiratori (CHIANCONE et al., 1985). Le caratteristiche dell'emoglobina di *Scapharca* sono del tutto straordinarie e costituiscono un modello interessante di biologia molecolare.
Un'altro adattamento che aumenta la disponibilità di ossigeno, comune ad altri Arcidi, è che *Scapharca* continua a ventilare le branchie anche a basse concentrazioni di ossigeno ed è in grado di estrarre questo gas dall'acqua anche a livello del mantello che è molto irrorato.
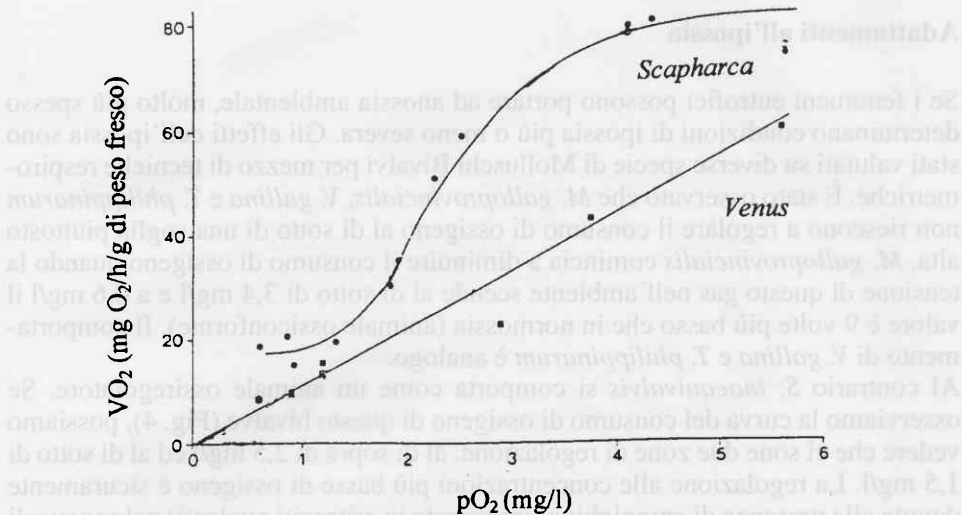
Fig. 4 - Consumo di ossigeno a diverse pO2 in *Scapharca inaequivalvis* e *Venus gallina*.

Resistenza all'ipossia

Quando gli animali sono esposti a livelli decrescenti di ossigeno, esiste una concentrazione critica alla quale si innesca il metabolismo anaerobico. A questo punto la produzione anaerobica di energia coesiste con quella aerobica per soddisfare le richieste energetiche dell'organismo. L'accensione del metabolismo anaerobico viene sicuramente individuata da un brusco aumento nei tessuti del contenuto dei prodotti finali anaerobici o parallelamente da una diminuzione significativa dei substrati energetici.
Le ricerche condotte nei nostri laboratori hanno messo in evidenza una diversa risposta di *S. inaequivalvis* e *M. galloprovincialis* all'ipossia, sottolineata dalla variazione dei livelli dei metaboliti durante l'esposizione (12 ore a 20°C) a livelli decrescenti di O_2.
In particolare è stato osservato che il metabolismo anaerobico viene innescato a concentrazioni più alte di ossigeno rispetto a *Scapharca* ed è completamente

attivato quando nell'acqua vi è ancora una piccola concentrazione di O_2. Il mitilo si trova fisiologicamente in anossia quando nell'ambiente vi è ancora ossigeno a livelli significativi (1,6 mg/l). In *Scapharca* il metabolismo non è del tutto anaerobico se non a livelli di ossigeno molto bassi (meno di 0,5 mg/l) suggerendo che un piccola componente aerobica di produzione di energia esiste fino a che l'animale non è completamente in anossia (DE ZWAAN et al., 1991). La più alta sensibilità alle basse concentrazioni di O_2 porta *M. galloprovincialis* a sperimentare lo stress anossico molto prima di *S. inaequivalvis* e rispetto a quest'ultima specie le condizioni di carenza di ossigeno, come conseguenza dell'eutrofizzazione, possono portare ad una più alta mortalità.

Scapharca come modello sperimentale

Le caratteristiche biochimiche e fisiologiche, brevemente tratteggiate, hanno fatto si che *S. inaequivalvis* costituisse un modello per lo studio di importanti adattamenti evolutivi all'ambiente marino ed anche un interessante modello per la biologia molecolare (struttura e funzioni dell'emoglobina).
Particolarmente interessanti sono le ricerche sugli effetti dell'H_2S, un composto altamente tossico per la fauna marina, ubiquitario nei sedimenti ed in ambienti acquatici anossici. È stato osservato che l'idrogeno solforato in presenza di ossigeno induce in *Scapharca* il metabolismo anaerobico e quando viene aggiunto al mezzo di incubazione anossico, accelera il tempo di morte (DE ZWAAN et al., 1993). Sono stati messi in evidenza nel sangue del bivalve dei composti derivati dall'emoglobina (ematine) che hanno la funzione di detossificazione nei confronti dell'idrogeno solforato (VISMANN, 1993). Infatti le ematine sono in grado di ossidare l'H_2S a composti meno tossici, come ad esempio il tiosolfato.
Altri studi sono stati effettuati per chiarire l'effetto di metalli pesanti tossici (cadmio) sul metabolismo dei tessuti e degli eritrociti di *Scapharca* (CORTESI et al., 1992).
La rusticità, la resistenza agli stress e la facile acclimatazione rendono questo bivalve adatto ad altri tipi di indagini. Sono in corso ricerche per la utilizzazione di *Scapharca* in studi di ecotossicologia e biomonitoraggio ambientale.
In genere i Molluschi Bivalvi sono in grado di assumere rapidamente un ampio range di composti organici ed inorganici nei loro tessuti con trasformazioni metaboliche minime e pertanto i residui accumulati riflettono ampiamente le variazioni quantitative e qualitative dei contaminanti ambientali.
Uno dei principali effetti della tossicità si esplica con un'alterazione del metabolismo energetico a causa dell'incremento della spesa energetica, in presenza dell'agente tossico, per l'induzione e la regolazione dei sistemi di detossificazione e la riparazione di eventuali danni prodotti. La possibilità di quantificare alterazioni del metabolismo energetico, ad uno stadio precoce degli effetti dei contaminanti, rappresenta un mezzo molto importante per il biomonitoraggio ambientale.
Sulla base di queste considerazioni in un recente esperimento, che si inserisce su di un piano di ricerche per la valutazione di indici biochimici e fisiologici di stress dovuti all'azione di composti xenobiotici organici, si è cercato di verificare un

eventuale effetto degli idrocarburi policiclici aromatici (PAH) sul metabolismo energetico (DIRANI, 1997). I PAH sono prevalentemente di origine antropica derivando dai processi di combustione legati alle attività umane e fra questi, il benzo(a)pirene è considerato un composto estremamente tossico e pericoloso per l'ambiente e per la salute dell'uomo.
L'idrocarburo aromatico è stato iniettato direttamente nell'epatopancreas di esemplari di *S. inaequivalvis* a concentrazioni (1 mg/g) sicuramente molto più alte di quelle rilevate nell'ambiente. Inoltre, dopo la prima somministrazione, le dosi sono state ripetute altre due volte ad intervalli di tempo di 4 giorni, molto inferiore ai tempi solitamente impiegati per la depurazione degli organismi dal benzo(a)pirene, per avere la possibilità di valutare il quadro metabolico anche in presenza di fenomeni di accumulo.
I dati analitici relativi alle concentrazioni di substrati energetici, adenilati e prodotti finali anaerobici suggeriscono che il benzo(a)pirene non esercita alcun effetto sul metabolismo energetico. Infatti il contenuto di glicogeno, adenilati e fosfoarginina rilevato negli animali trattati non è significativamente diverso da quello dei controlli (animali iniettati solo con solvente dimetilformammide). Anche dopo la seconda e la terza iniezione le concentrazioni di questi metaboliti non sono risultate significativamente diverse da quelle dopo la prima iniezione.
Per quanto riguarda i prodotti finali anaerobici la loro misura assume, come è già stato indicato per l'aspartato, un notevole significato. Infatti l'accumulo di prodotti finali del metabolismo anaerobico quando l'animale si trova in ambiente aerobico può essere indice di situazioni di stress, non essendo in grado l'organismo di far fronte alle richieste energetiche attraverso la produzione aerobica di ATP che è molto efficiente, ma relativamente lenta. L'attivazione del metabolismo anaerobico fornisce allora, attraverso un processo poco efficiente ma molto rapido, l'energia richiesta. In tal caso si ha accumulo dei prodotti finali del metabolismo anaerobico.
In questa ricerca abbiamo analizzato gli esemplari di *S. inequivalvis* per l'alanina, il succinato, l'octopina e il D-lattato. Le concentrazioni, peraltro molto basse, di questi metaboliti non hanno mostrato variazioni significative sia rispetto ai controlli che nelle successive iniezioni. Il benzopirene dunque non esercita alcun effetto a livello del metabolismo energetico e probabilmente esplica la sua tossicità ad altri livelli.
Sono in corso altre indagini per valutare l'azione di detossificazione, verso gli idrocarburi, di particolari sistemi enzimatici (soprattutto l'ossigenasi a funzione mista) che vengono indotti in presenza dei contaminanti. L'aumento dell'attività di tali enzimi, che dipende dalla presenza degli idrocarburi, può pertanto essere considerato un indice specifico di stress.

Bibliografia

BONI L., 1983 - Red tides of the coast of Emilia-Romagna (north-western Adriatic Sea) from 1975 to 1982. *Inf. Bot. Ital.*, 15: 18-24.

BONI L., POMPEI M., RETI M., 1986 - Maree colorate e fioriture algali lungo la costa dell'Emilia-Romagna dal 1982 al 1985 con particolare riguardo alla comparsa di *Protogonyaulax tamarensis*. *Nova Thalassia*, 8, suppl. 3: 237-245.

BROOKS S.P, DE ZWAAN A., VAN DEN THILLART G., CATTANI O., CORTESI P., STOREY K.B., 1991 - Differential survival of *Venus gallina* and *Scapharca inaequivalvis* during anoxic stress: covalent modification of phosphofructokinase and glycogen phosphorilase during anoxia. *J. Comp. Physiol.*, B161: 207-212.

CATTANI O., CORTESI P., DANESI A., CARPENÈ E., DE ZWAAN A., 1993 - Aspetti comparati del metabolismo anaerobico in molluschi bivalvi del Mare Adriatico. *Biologia Marina*, suppl. Notiziario SIBM: 119-124.

CHIANCONE E., BOFFI A., VERZILI D., ASCOLI F., 1985 - Proprietà delle emoglobine del mollusco *Scapharca inaequivalvis* in rapporto alle condizioni ecologiche del Mare Adriatico. *Atti del 1° Simposio di Biochimica Marina*, Cesenatico, 19 settembre 1985.

CORTESI P., CATTANI O., VITALI G., CARPENÈ E., DE ZWAAN A., VAN DEN THILLART G., ROOS J., VAN LIESHOUT G., WEBER R.E., 1992 - Physiological and biochemical responses of the bivalve *Scapharca inaequivalvis* to hypoxia and cadmium exposure: erythrocytes versus other tissues. *Science of the total environment*, suppl.: 1041-1053.

DEGOBBIS D., SMODLAKA N., POJED I., SKRIVANIL A., PRECALI R., 1979 - Increased eutrophication in the northern Adriatic Sea. *Mar. Poll. Bull.*, 10: 298-301.

DEGOBBIS D., TRAVIZI A., JAKLIN A., 1993 - Meccanismi di formazione di strati di fondo ipossici e anossici nel bacino dell'Alto Adriatico settentrionale e reazioni delle comunità bentoniche. In: OREL G., FONDA UMANI S. & ALEFFI F. (eds.) - Ipossie e anossie di fondali marini, l'Alto Adriatico e il Golfo di Trieste. *Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia*, Trieste.

DE ZWAAN A. & PUTZER V., 1985 - Metabolic adaptations of intertidal invertebrates to environmental hypoxia (a comparison of environmental anoxia to exercise anoxia). In: LAWERACK M.S. (ed.) - Physiological adptations of marine animals. *Symposia of the Society of Experimental Biology*, The Company of Biologist Limited. Dept. of Zool., Univ. of Cambridge, 39: 33-62.

DE ZWAAN A. & VAN DEN THILLART G., 1985 - Low and higher power output modes of anaerobic metabolism: invertebrates and vertebrates strategies. In: GILLES R. (ed.) - Circulation, Respiration and metabolism. *Springer Verlag*, Berlin: 166-192.

DE ZWAAN A., CORTESI P., VAN DEN THILLART G., ROOS J., STOREY K.B., 1991 - Differential sensitivity to hypoxia by two anoxia tolerant marine molluscs: a biochemical analysis. *Mar. Biol.*, 111: 343-351.

DE ZWAAN A., CORTESI P., VAN DEN THILLART G., BROOKS S., STOREY K.B., ROOS J., VAN LIESHOUT G., CATTANI O., VITALI G., 1992 - Energy metabolism of bivalves at reduced oxygen tensions. *Science of the total Environment*, suppl., 1029-1039.

DE ZWAAN A., MATHIEU M., 1992 - Cellular energy metabolism in the Mytilidae: an overview. Cellular Biochemistry and Endocrinology. In: GOSLING E. (ed.) - The Mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Elsevier, Amsterdam (etc.). *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 25: 223-307.

DE ZWAAN A., CATTANI O., PUTZER V.M., 1993 - Sulfide and cyanide induced mortality and anaerobic metabolism in the arcid blood clam *Scapharca inaequivalvis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 105 C: 49-54.

DIRANI L., 1997 - Effetti di idrocarburi policiclici aromatici (PAH) in Bivalvi adriatici: valutazione di indici fisiologici e biochimici di stress. Tesi di Laurea, relatore prof. O. Cattani, Facoltà di Scienze MM. FF. NN. di Bologna: 82 pagg.

HAMMEN C.S., 1976 - Respiratory adaptations: invertebrates. In: Estuarine processes, uses, stresses and adaptation to the estuary. *Academic Press*, New York, 1: 347-355.

MANCINI L., CATTANI O., MONTANARI O., POLETTI P., RINALDI A., 1978 - Alcuni aspetti della eutrofizzazione dell'Adriatico in rapporto alla pesca. *Atti del VII Convegno della Pesca, a cura della Camera di Commercio I.A.A. di Forlì.*

OREL G., VIO E., PRINCI M., DEL PIERO D., ALEFFI F., 1986 - Stati di anossia dei fondali, popolamenti bentonici e pesca. *Nova Thalassia*, 8, suppl. 3: 267-280.

RINALDI A., MONTANARI G., GHETTI A., FERRARI C.R., 1992 - Anossie delle acque costiere dell'Adriatico Nord-Occidentale. Loro evoluzione e conseguenze sull'ecosistema bentonico. *Biologia Marina*, suppl. al notiziario SIBM, 1, 79-89.

RINALDI E., 1972 - Osservazioni relative a molluschi appartenenti al genere *Anadara* viventi in Adriatico. *Conchiglie*, 9-10: 121-124.

RINALDI E., 1993 - Alcune considerazioni sulla validità del genere *Scapharca* Gray, 1847. *Boll. Malacologico*, 29: 227-232.

RINALDI E. & GHISOTTI F., 1976 - Osservazioni sulla popolazione di *Scapharca* insediatasi in questi ultimi anni su un tratto del litorale romagnolo. *Conchiglie*, 12: 183-195.

STACHOWITSCH M., 1984 - Mass mortality in the Gulf of Trieste: the course of community destruction. P.S.Z.N.I., *Mar. Ecol.*, 5: 243-264.

STACHOWITSCH M., 1986 - The Gulf of Trieste: a sensitive ecosystem. *Nova Thalassia*, 8, suppl. 3: 221-235.

STACHOWITSCH M., 1992 - Benthic communities: eutrophication's "memory mode". *Science of the total Environment*, suppl.: 1017-1028.

VISMANN B., 1993 - Hematin and sulfide removal in hemolynph of the hemoglobin - containing bivalve *Scapharca inaequivalvis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 98: 115-122.

VIVIANI R., BONI L., CATTANI O., MANCINI L., POLETTI R., ANNIBALI A., MILANDRI A., MONTANARI G., NIZZOLI C., PIRINI M., POMPEI M., RINALDI A., 1985 - Occurrence of various types of phytoplankton blooms in a coastal area of the northern Adriatic sea facing Emilia-Romagna during 1978. *Memoria Accademia delle Scienze di Bologna*, classe Sc. MM. FF. NN., serie IV, n. 10: 5-81.

VOLLENWEIDER R.A., RINALDI A., MONTANARI G., 1992 - Eutrophication, structure and dinamics of a marine coastal system: result of a ten year monitoring along the Emilia-Romagna coast (Northwest Adriatic Sea). *Science of the total Environment*, suppl.: 63-106.

Indirizzo degli autori:
Otello Cattani, Dipartimento di Biochimica, Univ. di Bologna, via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano Emilia (BO)
Loris Dirani, via Testi, 5 - 48010 Cotignola (RA)
Emidio Rinaldi, via Marengo, 29 - 47100 Forlì